

UJI TOKSISITAS DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI BERBAGAI FRAKSI EKSTRAK DAUN TANAMAN KAMBOJA (*Plumeria acuminata* Ait.)

TOXICITY TEST AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY ON VARIOUS FRACTION OF *Plumeria acuminata* AIT. LEAVES EXTRACT

Subur P. Pasaribu, Wahidatul Nuriah dan Erwin

Program Studi Kimia FMIPA Universitas Mulawarman
Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua Samarinda, 75123

ABSTRACT

Research about phytochemical, brine shrimp lethality and antibacterial activity tests in each fraction from kamboja leaves (*Plumeria acuminata* Ait.) from Loa Janan, East Kalimantan has been carried out. *Plumeria acuminata* Ait. leaves was extracted with ethanol and then concentrated by using rotary evaporator. The total extract was fractioned with *n*-hexane, and ethyl acetate. Based on the secondary metabolites phytochemical test of the *Plumeria acuminata* Ait. leaves show that total extract is contain alkaloid, steroid, and phenolic. *n*-hexane fraction is contain steroid. Ethyl acetate fraction is contain steroid. Ethanol-water fraction is contain alkaloid and phenolic. Brine shrimp lethality test exhibit mortality rate of *Artemia salina* (L) by Probit SAS analysis to determine lethal concentration 50% (LC₅₀) value. The test show that the most active was ethyl acetate fraction with LC₅₀ value of 44.7968 ppm. Antibacteria activity test of extracts for *Staphylococcus aureus* bacteria (positive Gram) and *Escherichia coli* (negative Gram) was carried out by paper disc method. The test showed that the most active were ethyl acetate fraction with minimum inhibitor concentration of 1.563% which clear zone diameter was 5.3 mm on *Staphylococcus aureus* bacteria and 6.3 mm on *Escherichia coli* bacteria.

Keywords: *Plumeria acuminata* Ait., Phytochemical Test, Antibacteria Activity Test, Bacteria, LC₅₀.

A. PENDAHULUAN

Tumbuhan merupakan salah satu sumber bahan kimia. Berpuluh-puluh, bahkan beribu-ribu komponen kimia terkandung di dalamnya. Namun, hingga kini fungsi dan peran setiap komponen belum terungkap seluruhnya. Beberapa komponen kimia tersebut ada yang bersifat menyembuhkan penyakit sehingga banyak digunakan sebagai obat atau ramuan tradisional maupun sengaja diisolasi untuk dikembangkan sebagai obat modern (Kardinan, A dan Taryono, 2003).

Tumbuhan menghasilkan banyak senyawa untuk pertahanan diri melawan infeksi mikroba (Oyetayo, F.L et.al, 2007). Senyawa – senyawa yang dihasilkan tumbuhan antara lain adalah senyawa metabolit sekunder dimana banyak senyawa ini yang bersifat sebagai antibakteri antara lain fenol dan fenolat (Pelczar and Chan, 1988), terpenoid (Daisy et.al, 2008), flavonoid (Pilewski, 2004), saponin, alkaloid, tanin, poliasetilen, poliamina, isotiosianat, tiosulfonat, dan glukosida (Cowan, 1999).

Pengobatan terhadap penyakit infeksi biasanya menggunakan antibiotik dan telah banyak

dikembangkan. Tetapi pada beberapa kasus penggunaan antibiotik memberikan efek samping terhadap tubuh yang tidak diinginkan, di mana ini merupakan masalah yang serius. Situasi ini mendorong para ilmuwan untuk mengembangkan senyawa antibakteri baru yang berasal dari bahan alam (Aliero, 2008). Salah satu tanaman berkhasiat sebagai obat yaitu tanaman kamboja (*Plumeria acuminata* Ait.), dimana berdasarkan uji pendahuluan yang telah dilakukan tanaman ini memiliki aktivitas sebagai antibakteri.

Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui aktifitas antibakteri dari ekstrak total, Fraksi *n*-Heksan, Etil Asetat dan Etanol-air daun tanaman kamboja (*Plumeria acuminata* Ait.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (mewakili bakteri gram positif) dan bakteri *Escherichia coli* (mewakili bakteri gram negatif) serta toksisitasnya yang diuji dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test*.

B. METODOLOGI PENELITIAN

2.1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender, erlenmeyer, gelas beker, neraca analitik, pompa vakum, rotary evaporator, pipet volume, pipet tetes, *bulp*, tabung reaksi, pipet mikro 100-1000 µl, autoclave, laminar flow, water shaker, oven, inkubator, hot plate, batang pengaduk, cawan petri, jarum ose,

bunsen, magnetic stirrer, aluminium foil, corong pisah, corong kaca, mistar, kertas saring, lidi, kapas, pinset, lampu TL dan gelas ukur, mikropelat.

2.2. Bahan

Etanol, kloroform, *n*-heksana, akuades, aseton, etil asetat, H₂SO₄ 2M, HCl pekat, CHCl₃, asam asetat glasial, H₂SO₄ pekat, FeCl₃ 1%, serbuk Mg, telur udang,

reagen dragendorf, bacto agar, yeast, pepton, natrium klorida, paper disk antibiotik kloramfenikol, bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, air laut, DMSO.

2.3. Prosedur Penelitian

2.3.1. Ekstraksi Dan Fraksinasi

Daun kamboja yang telah halus diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol. Ekstraksi dilakukan hingga larutan ekstrak tidak berwarna lagi, kemudian dilanjutkan dengan proses penyaringan. Setelah disaring, pelarut diuapkan dengan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak total yang kemudian difraksinasi berdasarkan perbedaan kepolaran pelarut-pelarut organik. Ekstrak total dilarutkan dalam etanol kemudian difraksinasi dengan *n*-heksana di dalam corong pisah, sehingga diperoleh 2 fraksi yaitu fraksi etanol dan fraksi *n*-heksana. Fraksi *n*-heksana dipekatkan dengan rotary evaporator dan disebut sebagai ekstrak fraksi *n*-heksana. Selanjutnya fraksi etanol ditambahkan dengan aquades, lalu difraksinasi dengan penambahan etil asetat. Dari fraksinasi kedua ini diperoleh 2 fraksi, yaitu fraksi etil asetat dan fraksi etanol-air. Kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator dan hasilnya masing-masing disebut sebagai ekstrak fraksi etil asetat dan ekstrak fraksi etanol-air.

2.3.2. Uji Fitokimia

2.3.2.1. Uji Alkaloid (Uji Dragendorff)

Ekstrak total daun tanaman kamboja dan fraksi-fraksinya ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff (campuran $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam asam nitrat dan larutan KI). Adanya alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan jingga sampai merah coklat dengan pereaksi Dragendorff (Robinson, 1995).

2.3.2.2. Uji Terpenoid dan Steroid (Uji Lieberman Buchard)

Ekstrak total daun kamboja dan fraksi-fraksinya dilarutkan dalam pelarutnya lalu ditambahkan 3 tetes pereaksi Lieberman-Burchard (asetat glasial + H_2SO_4 pekat). Uji positif triterpenoid memberikan warna merah atau ungu dan uji positif steroid memberikan warna hijau atau biru (Harborne, 1987).

2.3.2.3. Uji Fenolik

Sedikit ekstrak total dan fraksi-fraksinya dimasukkan dalam tabung reaksi lalu ditambahkan dengan pereaksi besi (III) klorida 1% dalam akuades. Reaksi positif jika memberikan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat (Bawa, 2011).

2.3.2.4. Uji Flavonoid

Ekstrak total dan fraksi-fraksinya dilarutkan dengan pelarutnya kemudian, ditambahkan sedikit serbuk Mg dan 1 ml HCl pekat, kemudian dikocok-kocok. Uji positif ditandai dengan terbentuknya warna merah, jingga atau ungu (Robinson, 1995).

2.3.2.5. Uji Saponin

Ekstrak total dan fraksi-fraksinya, dikocok kuat, jika timbul busa ditambahkan 1 tetes HCl pekat. Ekstrak positif mengandung saponin jika timbul busa dengan ketinggian 1-3 cm yang bertahan selama 15 menit (Harborne, 1987).

2.3.3. Uji Mortalitas Larva Udang

Sebanyak 10 mg telur udang *A. salina* ditambah 100 mL air laut yang telah disaring. Selanjutnya diberi

pencahaya lampu TL selama 48 jam sampai telur udang *A. salina* menetas sempurna dan siap diujicobakan.

Ditimbang ekstrak total sebanyak 0,2 gram dan dilarutkan dengan air laut hingga volumenya mencapai 100 mL dalam labu ukur, untuk membuat konsentrasi sampel 2000 ppm. Sampel dengan konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,2; 15,6 dan 7,8 ppm dibuat dari pengenceran sampel dari konsentrasi 2000 ppm. Masing-masing sampel kemudian dipipet sebanyak 2500 μL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, yang telah ditambah 2500 μL air laut yang berisi 10 larva udang pada setiap sampel sehingga volume sampel menjadi setengahnya (1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,2 ; 15,6 dan 7,8 ppm). Jumlah larva udang yang mati dihitung setelah 24 jam dan dianalisa untuk menentukan nilai LC_{50} . Kontrol dikerjakan sama dengan perlakuan sampel, tetapi tanpa penambahan ekstrak kasar. Ekstrak sampel yang sukar larut dapat ditambahkan DMSO satu sampai tiga tetes (Kadarisman, 2000). Setiap sampel dilakukan uji mortalitas sebanyak tiga kali (triplo). Ekstrak fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi etanol-air juga dilakukan uji mortalitas larva udang (*brine shrimp lethality test*) dengan prosedur yang sama seperti pada ekstrak kasar.

2.3.4. Uji Aktifitas Antibakteri

2.3.4.1. Pembuatan Media Nutrien Agar (NA)

Sebanyak 23 gram NA disuspensikan dalam 1000 mL akuades kemudian dipanaskan hingga larut. Selanjutnya disterilkan dalam autoklaf selama 20 menit pada suhu 120°C (Gowri, 2009).

2.3.4.2. Regenerasi Bakteri

Biakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diregenerasi dengan menginokulasikan 1 ose biakan murni bakteri ke dalam media NA (*nutrient agar*) miring lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Fatmawaty 2009).

Setelah didapat biakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dalam media padat, bakteri dibiakkan kembali ke dalam media cair yang disebut *nutrient broth*. Diambil isolate murni bakteri 1 sampai 2 ose dengan menggunakan jarum ose yang steril. Kemudian dishaker selama 24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya biakan bakteri dapat digunakan untuk uji aktivitas antibakteri.

2.3.4.3. Uji Aktivitas Bakteri

Pelaksanaan uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode difusi agar (Kirby-Bauer). Sebanyak 25 ml nutrien agar dimasukkan kedalam cawan petri dan dibiarkan hingga memadat. Kemudian dimasukkan inokulum bakteri kedalam cawan petri yang berisi nutrien agar menggunakan lidi kapas steril. Inokulum bakteri dioleskan pada media agar dengan kemiringan cawan petri 90° secara terus menerus hingga merata (Mahato dan Chaudhary, 2005). Setelah itu diletakkan kertas cakram (5 mm) pada permukaan media agar yang mengandung ekstrak uji. Sebagai kontrol positif pada masing-masing cawan petri dimasukkan kertas cakram yang mengandung kloramfenikol. Dan sebagai kontrol negatif dimasukkan kertas cakram tanpa penambahan ekstrak. Kemudian cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35-37°C. Daerah bening

disekitar kertas cakram menunjukkan uji positif yaitu adanya aktivitas antibakteri. Diameter daerah (zona) bening yang diperoleh diukur dibandingkan dengan senyawa standar kloramfenikol (kontrol positif).

2.3.4.4. Penentuan MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Ekstrak total dan fraksi-fraksi daun kamboja dibuat dalam beberapa konsentrasi yaitu 50; 25; 12,5;

6,25; 3,125; dan 1,563% (b/v). Kemudian masing-masing konsentrasi diuji aktivitas antibakterinya dan hasilnya akan terlihat pada konsentrasi terendah dari ekstrak total dan fraksinya yang masih dapat menghambat pertumbuhan bakteri merupakan nilai minimal.

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Hasil Ekstraksi

Tabel 1. Berat dari ekstrak total dan masing-masing fraksi

Jenis Ekstrak	Berat (gram)
Ekstrak Total	52,24
Fraksi <i>n</i> -Heksana	40,87
Fraksi Etil Asetat	3,49
Fraksi Etanol-Air	1,11

3.2. Uji Fitokimia

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia dari ekstrak total dan masing-masing fraksi.

Jenis Senyawa	Jenis Ekstrak			
	Ekstrak total	Fraksi <i>n</i> -Heksana	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Etanol-Air
Alkaloid	+	-	-	+
Saponin	-	-	-	-
Steroid	+	+	+	-
Triterpenoid	-	-	-	-
Flavonoid	-	-	-	-
Fenolik	+	-	-	+

Keterangan :
+ = Mengandung senyawa metabolit sekunder
- = Tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

3.3. Uji Mortalitas Larva Udang (*Brine shrimp lethality test*).

Tabel 3. Nilai LC₅₀ uji mortalitas larva udang ekstrak total dan masing-masing fraksi.

Jenis Ekstrak	LC ₅₀ (ppm)
Ekstrak Total	241,4081
Fraksi <i>n</i> -Heksana	481,4842
Fraksi Etil Asetat	44,7968
Fraksi Etanol-Air	303,4020

3.4. Uji Aktivitas Antibakteri

Tabel 4. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak total daun tanaman kamboja

Bakteri uji	Diameter zona bening (mm)							
	Ekstrak total dengan variasi konsentrasi (%)						Antibiotik Kloramfenikol	Kontrol
	50	25	12,5	6,25	3,125	1,563		
<i>Staphylococcus aureus</i>	11,9	10,7	8,9	6,8	6	5,7	22,8	-
<i>Escherichia coli</i>	9,9	8,8	8,3	6	5,8	5,3	26,5	-

Keterangan ; (-) = Tidak ada zona bening (cakram 5 mm)

Tabel 5. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksana daun tanaman kamboja

Bakteri uji	Diameter zona bening (mm)							
	Fraksi n-heksan dengan variasi konsentrasi (%)						Antibiotik Kloramfenikol	Kontrol
	50	25	12,5	6,25	3,125	1,563		
<i>Staphylococcus aureus</i>	8,9	8,8	8,1	7,6	5,7	5	22,8	-
<i>Escherichia coli</i>	8,9	8,3	7,4	5,4	5,4	5	26,5	-

Keterangan ; (-) = Tidak ada zona bening (cakram 5 mm)

Tabel 6. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun tanaman kamboja

Bakteri uji	Diameter zona bening (mm)							Antibiotik Kloramfenikol	Kontrol
	Fraksi etil asetat dengan variasi konsentrasi (%)								
	50	25	12,5	6,25	3,125	1,563			
<i>Staphylococcus aureus</i>	22,6	16,9	8,8	8	5,6	5,3	22,8	-	
<i>Escherichia coli</i>	16	9,2	7,7	7,3	6,5	6,3	26,5	-	

Keterangan ; (-) = Tidak ada zona bening (cakram 5 mm)

Tabel 7. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi etanol-air daun tanaman kamboja

Bakteri uji	Diameter zona bening (mm)							Antibiotik Kloramfenikol	Kontrol
	Fraksi n-heksan dengan variasi konsentrasi (%)								
	50	25	12,5	6,25	3,125	1,563			
<i>Staphylococcus aureus</i>	12,1	10,3	9	7,9	7,6	6,2	22,8	-	
<i>Escherichia coli</i>	12,8	10,3	9,9	7,8	7,6	6,3	26,5	-	

Keterangan ; (-) = Tidak ada zona bening (cakram 5 mm).

3.5. Pembahasan

3.5.1. Ekstraksi dan fraksinasi daun tanaman kamboja (*Plumeria acuminata* Ait.)

Sampel daun kamboja sebanyak 524,68 gr di maserasi dengan etanol di dalam botol gelap dan bertutup rapat, hal ini bertujuan agar cahaya tidak menembus dinding botol yang kemungkinan dapat merusak pelarut dan botol harus ditutup rapat agar etanol yang digunakan sebagai pelarut tidak menguap ke udara. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah dilakukan.

Pemilihan pelarut yang sesuai sangat penting, dimana dalam penelitian ini digunakan etanol dengan pertimbangan etanol lebih efektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, dan panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1986).

Etanol merupakan salah satu pelarut organik yang bersifat semipolar sehingga diharapkan mengikat seluruh senyawa metabolit yang terdapat dalam jaringan tanaman. Maserasi dilakukan berulang kali hingga filtratnya tidak berwarna lagi dan sampel yang telah dimaserasi, disaring dan filtrat yang diperoleh dirotari evaporator yang selanjutnya menghasilkan ekstrak etanol. Terhadap ekstrak total dilakukan fraksinasi dengan n-heksan, etil asetat dan etanol-air. Fraksinasi merupakan metode ekstraksi cair-cair dimana pemisahan komponen kimia di antara 2 lapisan pelarut yang tidak saling bercampur dimana sebagian komponen larut pada lapisan pertama dan sebagian larut pada lapisan kedua, lalu kedua lapisan yang mengandung zat terdispersi dikocok dan didiamkan hingga terjadi pemisahan sempurna dimana terbentuk lapisan berupa fraksi polar dan fraksi nonpolar. Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak total berdasarkan kepolaran pelarut-pelarut organik.

3.5.2. Uji Mortalitas Larva Udang (BSLT)

Uji toksisitas ini dilakukan untuk mendukung hasil uji antibakteri pada ekstrak total dan masing-masing fraksi. Uji ini merupakan metode yang paling sederhana sebagai langkah awal untuk menentukan sifat toksisitas dari bahan. Toksisitas merupakan indikator biologi yang sangat berguna kaitannya dalam aktivitas biologi (bioaktivitas).

Menurut (Mc Laughlin 1998), dalam pengamatan potensi bioaktivitas ini dilakukan berdasarkan nilai *Lethal Concentration* 50 % (LC_{50}) yaitu suatu nilai yang menunjukkan konsentrasi zat toksik yang dapat mengakibatkan kematian organisme sampai 50 %. Apabila $LC_{50} < 30$ ppm maka ekstrak sangat toksik dan berpotensi mengandung senyawa bioaktif antikanker. Meyer (1982) menyebutkan tingkat toksisitas suatu ekstrak: $LC_{50} \leq 30$ ppm = Sangat Toksik, $31 \text{ ppm} \leq LC_{50} \leq 1.000$ ppm = Toksik dan $LC_{50} > 1.000$ ppm = Tidak Toksik

Berdasarkan data di atas menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki bioaktivitas paling tinggi terhadap larva udang, yang ditunjukkan dengan nilai LC_{50} paling kecil yaitu 44,7968 ppm. Pada ekstrak total menunjukkan nilai LC_{50} yang lebih besar bila dibandingkan dengan fraksi etil asetat, hal ini dimungkinkan karena tidak adanya kerja sama yang sinergis antara metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak total tersebut. Pada fraksi n-heksana dan etanol-air juga menunjukkan nilai LC_{50} yang lebih besar dibandingkan dengan fraksi etil asetat. Berdasarkan uji fitokimia, jenis senyawa metabolit sekunder pada fraksi etil asetat hanya mengandung steroid. Kemungkinan steroid yang berada pada fraksi etil asetat ini lebih bersifat aktif sehingga memiliki bioaktivitas yang tinggi. Walaupun bioaktivitas dari ekstrak total, fraksi n-heksana dan fraksi etanol-air kurang dari bioaktivitas fraksi etil asetat. Namun berdasarkan studi yang dilakukan Meyer (1982), senyawa kimia dikatakan berpotensi aktif bila mempunyai nilai LC_{50} kurang dari 1.000 ppm. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa ekstrak total, fraksi n-

heksana dan etanol-air berpotensi aktif karena nilai LC_{50} yang dihasilkan kurang dari 1.000 ppm.

3.5.3. Uji Aktivitas Antibakteri

Berdasarkan hasil yang diperoleh diketahui bahwa pada uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa pada fraksi etil asetat menghasilkan diameter zona bening yang lebih besar bila dibandingkan dengan ekstrak total dan fraksi yang lainnya, walaupun pada fraksi etil asetat tersebut hanya mengandung senyawa metabolit sekunder steroid. Hal ini kemungkinan disebabkan karena adanya kerja yang tidak sinergis antar senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak total dalam peranannya sebagai antibakteri. Sedangkan pada fraksi etil asetat kebalikannya, walaupun pada fraksi ini hanya mengandung senyawa metabolit sekunder steroid dan tidak mengandung senyawa yang banyak seperti pada ekstrak total, namun karena adanya sistem kerja yang sinergis antar senyawa metabolit sekunder pada fraksi etil asetat tersebut sebagai antibakteri maka zona bening yang dihasilkanpun besar.

Ekstrak dengan konsentrasi yang tinggi mengandung senyawa aktif dengan kadar yang tinggi pula, sehingga lebih besar daya hambatnya terhadap bakteri. Maka dapat dikatakan bahwa variasi konsentrasi tersebut mempengaruhi efektivitas antibakteri dari ekstrak total dan masing-masing fraksi dari daun tanaman kamboja (*Plumeria acuminata* Ait.). Namun jika dilihat diameter zona bening yang dihasilkan tiap ekstrak dalam uji aktivitas antibakteri terjadi perbedaan atau penurunan diameter zona bening. Penurunan diameter zona bening ini diduga karena bakteri mengalami mekanisme resistensi non genetik yaitu bakteri dalam keadaan istirahat (inaktivasi metabolik) biasanya keadaan ini tidak dipengaruhi oleh antibakteri. Apabila bakteri berubah menjadi aktif kembali, maka bakteri kembali bersifat sensitif terhadap antibakteri seperti semula (Mukhlasih, 2010). Perbedaan zona bening juga dapat dipengaruhi oleh tingkat sensitifitas dari organisme uji, medium kultur dan kondisi inkubasi, kecepatan difusi dari senyawa antibakteri dan konsentrasi senyawa antibakteri.

Dari hasil uji aktivitas antibakteri dari daun tanaman kamboja (*Plumeria acuminata* Ait.), menunjukkan bahwa senyawa antibakteri yang terkandung dalam ekstrak total, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi etanol-air memiliki sifat berspektrum luas. Artinya ekstrak tersebut memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Gram positif) dan *Escherichia coli* (Gram negatif), seperti halnya dengan kloramfenikol yang juga

berspektrum kerja luas. Kloramfenikol yang digunakan sebagai pembanding merupakan jenis antibiotik yang memiliki spektrum kerja luas dan sering digunakan karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif. Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya diameter zona bening kloramfenikol terhadap aktivitas bakteri untuk kedua bakteri, *Staphylococcus aureus* sebesar 22,8 mm, sedangkan pada bakteri *Escherichia coli* diameter zona bening yang terbentuk sebesar 26,5 mm. Mekanisme kerja kloramfenikol adalah menghambat sintesis protein yang dibutuhkan untuk pembentuk sel-sel bakteri dengan menghambat fungsi RNA dari bakteri. Kloramfenikol mengikat ribosom sub unit 50 S yang merupakan langkah penting dalam pembentukan ikatan peptida.

Pengukuran kekuatan antibakteri telah dikemukakan oleh Davis dan Stout (1971) bila diameter daerah hambatan 5 mm atau kurang maka aktifitas penghambatannya dikategorikan lemah, 5-10 mm dikategorikan sedang, 10-19 mm dikategorikan kuat, dan 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa pada fraksi etil asetat dari daun tanaman kamboja (*Plumeria acuminata* Ait.) memiliki kekuatan menghambat pertumbuhan bakteri sangat kuat dilihat dari daerah hambat terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 22,6 mm pada konsentrasi 50%, pada konsentrasi 25% kekuatan hambatnya dikategorikan kuat karena diameter zona beningnya sebesar 16,9 mm sedangkan pada konsentrasi 12,5% - 1,563% dikategorikan sedang. Terhadap bakteri *Escherichia coli* pada fraksi ini memiliki kekuatan menghambat yang dikategorikan kuat karena menghasilkan zona bening sebesar 16 mm pada konsentrasi 50% sedangkan pada konsentrasi 25% - 1,563% dikategorikan sedang. Pada ekstrak total, kekuatan hambatan bakteri kategorikan kuat yaitu sebesar 11,9 mm pada konsentrasi 50% sedangkan pada konsentrasi 25% - 1,563% dikategorikan sedang. Terhadap bakteri *Escherichia coli*, kekuatan hambatan bakteri dikategorikan sedang begitu pula pada fraksi *n*-heksana baik pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Pada fraksi etanol-air dengan konsentrasi 50% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* memiliki kekuatan menghambat bakteri yang dikategorikan kuat karena menghasilkan zona bening sebesar 12,1 mm dan 12,8 mm sedangkan pada konsentrasi 25% - 1,563% terhadap kedua bakteri ini kekuatan menghambat bakterinya dikategorikan sedang.

D. KESIMPULAN

Kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak total dari daun tanaman kamboja (*Plumeria acuminata* Ait.) adalah alkaloid, steroid dan fenolik. Fraksi *n*-heksana hanya mengandung senyawa steroid begitu pula dengan fraksi etil asetat. Fraksi etanol-air mengandung senyawa alkaloid dan fenolik. Hasil dari uji mortalitas larva udang (*brine shrimp lethality test*) daun tanaman kamboja (*Plumeria acuminata* Ait.) diperoleh

hasil bahwa fraksi etil asetat memiliki bioaktivitas paling tinggi. Dengan nilai LC_{50} sebesar 44,7968 ppm dan pada uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa fraksi yang paling aktif juga adalah fraksi etil asetat dan mampu menghambat pertumbuhan kedua bakteri pada konsentrasi minimum 1,563% dengan diameter zona bening 5,3 mm pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan diameter zona bening 6,3 mm pada bakteri *Escherichia coli*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Aliero, A. A., Aliero, B.L. and Buhari, U. 2008. *Preliminary phytochemical and antibacterial screening of Scadoxus multiflorus*. International Journal of Pure and Applied Sciences. Int. Jor. P. App. Scs. 2(4):13-17.
2. Bawa, I.G.A.G. 2011. *Aktifitas Antioksidan Dan Antijamur Senyawa Atsiri Bunga Cempaka Putih (Michelia alba)*. Universitas Udayana Bukit Jimbaran, Jurusan Kimia FMIPA. Vol 5(1): 43-50.
3. Cowan, M. M. 1999. *Plant Product as Antimicrobial Agents*. Clinical Microbiology Reviews. Page:564-582.
4. Daisy, P., Mathew, S., Suveena, S., Nirmala, A. R. 2008. *A Novel Terpenoid from Elephantus Scaber-Antibacterial Activity on Staphylococcus Aureus: A Substantiate Computational Approach*. International Journal of Biomedical Science. Int J Biomed Sci 2008:4(3):196-203.
5. Davis W.W. and T.R Stout. 1971. *Disc Plate Methode of Microbiological Antibiotic Assay*. Microbiol. 22: 659-665.
6. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. Sediaan Galenik dan Uji Klinik Obat Tradisional. *Katalog dalam Terbitan Departemen Kesehatan RI*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
7. Fatmawaty, A. 2009. *Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Kakurang (Stacytarpheta jamaicensis (L) Vahl) Terhadap Staphylococcus aureus dan pseudomonas aeruginosa secara in vitro*. Majalah Farmasi dan Farmatologi Vol. 13 No. 3 Nopember 2009.
8. Gowri, S.S & Vasantha K. 2009. *Solvent Based Effectiveness of Antibacterial and Phytochemical Derivatized From the Seeds of Harpullia arborea (Blanco) Radlk (Sapindaceae)*. PG & Reasearch Departement of Botany: Kongunado Art and Science Collage. Vol 13(4) 99-101.
9. Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Penerjemah: Padmawinata, K., dan Iwang, S. Edisi II. Bandung: ITB Press.
10. Kadarisman, I. 2000. *"Isolasi dan Identifikasi Senyawa Kimia Bioaktif dari Rimpang Bangle (Zingerben cassumunan roxb)"*. Skripsi Jurusan Kimia FMIPA, Institut Pertanian Bogor.
11. Kardinan, A. dan Taryono. 2003. *Tanaman Penggempur Kanker*. Jakarta: PT Agro Media Pustaka.
12. Mahato, RB dan Chaudhary R.P. 2005. *Ethnomedicinal Study and Antibacterial Activities of Selected Plants Palpa District, Nepal*. Department of Botany: Tribhuvan University. Scientific World. Vol 3 No. 3.
13. McLaughlin JL, Rojers LL, Anderson JE. 1998. *The use of biological assay to evaluate botanicals*. Journal Drugs Information
14. Meyer, Laughlin, Ferrigini. 1982. *"Brine Shrimp: Convenient General Bioassay for Active Constituent"*. Planta Medica
15. Mukhlasih, W. 2010. *Pengaruh Ekstrak Tunggal dan Gabungan Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi Linn) Terhadap Efektivitas Antibakteri Secara in vitro*. Skripsi: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang Oyetayo, F. L., Oyetayo V. O., and Ajewole V. 2007. *Phytochemical Profile and Antibacterial Properties of the Seed and Leaf of the Luffa Plant (Luffa cylindrical)*. Journal of Pharmacology and Toxicology 2 (6): 586- 589,207.
16. Pelczar, M. J. and Chan, E. C. S. 1986. *Microbiology*. New Delhi: Mc Graw-Hill Book Company.
17. Pilewski, Bylka, W., Matlawska, N.A. 2004. *Natural Flavonoids as Antimicrobial Agents*, Department of Pharmacognosy, K. Marcinkowski University of Medicinal Sciences 10 Sieroca, 61-771 Poznan, Poland. JANA Vol 7. No. 2. 2004
18. Robinson, T. 1995. *Kandungan Kimia Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB.